紫外光对大白鼠红细胞膜γ－射线损伤的恢复效应

马寿祥 钟金颜

（中国科学院昆明动物研究所）

摘　要

本文研究了紫外光对细胞膜γ射线损伤的恢复作用。结果发现：经γ射线300Gy照射后再经紫外光照射5分钟的大白鼠红细胞悬浮液，不但不会加强细胞膜的损伤，反而对细胞膜有明显的恢复作用。经统计学处理有显著差别（$P<0.05$）。

实验还进一步证明：红细胞悬浮液经γ射线或紫外光照射后，在低温中释放的血红蛋白量与照射剂量成正比关系。可作为辐射（包括电离辐射或非电离辐射）对细胞膜损伤的一个方便易行的检查指标。

前　言

细胞的许多重要生命活动都与生物膜上的脂质，蛋白质等的结构与功能有关。电离辐射导致生物膜损伤及损伤发展过程中所出现的生物效应，是当前放射生物学领域中前沿研究课题之一。有人指出：细胞的增殖，死亡，至少是两种靶子（DNA和生物膜）之一受到辐射影响的结果（Singer等，1972）。因此研究保护或减弱电离辐射对生物膜的损伤，无论在理论上或实践上都具有重大的意义。

近来一些研究表明：红细胞经γ射线照射后在低温中存放，会释放出血红蛋白，释出量随辐射剂量加大而增多，可作为电离辐射对生物膜损伤的一个方便易行的检查指标（Kollmann等，1969；陈去恶等，1979）。

众所周知，一定剂量的紫外线对生物膜和细胞具有破坏作用，而适量的紫外线对细胞的某些损伤又有恢复作用。但是紫外线能恢复由电离辐射引起的生物膜损伤，至今国内外尚未见报导。在我们研究电离辐射对生物膜的辐射损伤与修复的实验中，首次发现紫外线对电离辐射引起生物膜损伤具有明显的恢复作用，现将结果报导如下。

本文于1981年9月10日收到。

材料与方法

取大白鼠外周血2毫升，注入20毫升生理盐水（0.9%NaCl）中，摇匀，室温下静置30分钟，过滤，离心（2000转/分，每次8分钟），吸去上部的白细胞，再经二次生理盐水清洗和离心收集，稀释成200倍的红细胞生理盐水悬浮液。

红细胞悬浮液分装于25毫升离心管中，每管8毫升，塞上橡皮塞，然后用^{60}Co—γ射线照射，总剂量300Gy（格雷），剂量率6.2 Gy/分，实验处理详见表1。

表1 γ—射线对红细胞膜损伤的实验

组合	剂量率(Gy/分)	照射室温度(°C)	冷贮时间(小时)
全溶血组	—	—	20
50Gy	6.2	19	20
100Gy	6.2	19	20
300Gy	6.2	19	20
500Gy	6.2	19	20

紫外线照射：采用15瓦紫外线杀菌灯，在开灯10分钟后，把红细胞悬浮液分别倒入称量瓶（5×3厘米）中，按照实验要求进行照射。本实验采用相对剂量即固定某一照射距离和改变时间的方法以改变其剂量，详见表2。

表2 紫外线对红细胞膜损伤的实验

组合	照射距离(厘米)	照射时间(分钟)	冷贮时间(小时)
A 全溶血组	—	—	20
B 紫外线照射3分钟	36	3	20
C 紫外线照射5分钟	36	5	20
D 紫外线照射10分钟	36	10	20
E 紫外线照射20分钟	36	20	20

γ射线和紫外线的复合照射：即将受300Gy照射后10—20分钟的红细胞悬浮液，按实验要求再经紫外线进行照射，详见表3。

上述各组的红细胞悬浮液，放入4—5°C冰箱中冷贮20小时，然后用0.9%NaCl补充，使管内体积为16毫升，摇匀，离心（2000转/分）8分钟，取上清液用国产721型分光光度计在420毫微米处比色，测出血红蛋白的相对量。

表3　紫外线对红细胞膜保护实验

组　合	γ射线剂量率(Gy/分)	照射室温度(°C)	照射距离(厘米)	照射时间(分钟)	冷贮时间(小时)
a　300 Gy	6.2	19	—	0	20
b　300Gy +紫外线3分钟	6.2	19	36	3	20
c　300Gy +紫外线5分钟	6.2	19	36	5	20
d　300Gy +紫外线10分钟	6.2	19	36	10	20
e　300Gy +紫外线20分钟	6.2	19	36	20	20

结　果

一、γ射线对红细胞释出血红蛋白的影响

若以不经γ射线照射的红细胞（用NH_4OH处理的全溶血组）在冷贮20小时过程中所释出的血红蛋白量为100%，与经γ射线照射各组释出血红蛋白比较，可明显看出血红蛋白释出量随照射剂量增高而增加（见表4）。经统计学处理，分别计算出血红蛋白释出量对照射剂量的相关系数（γ）为0.98，其回归方程为$y=0.1889x-2.6187$（y为血红蛋白释出量，x为照射剂量）。由方程计算出来的回归线和观察值绘制成图1。结果表明，血红蛋白释出量和照射剂量成线性正比关系。这与Kollmann等（1969）对人静脉血的血红蛋白释出量随照射剂量增加而增多的结果相吻合。

表4　γ—射线对红细胞膜的损伤

组　合	冷贮时间(小时)	光密度*	%
全溶血组	20	1.42	100
50Gy	20	0.11	7.7
100Gy	20	0.14	9.9
300Gy	20	0.92	64.3
500Gy	20	1.23	86.6

*三次试验的平均数

二、紫外线对红细胞释出血红蛋白的影响

紫外灯距离为36厘米时，照射3、5，10，20分钟的红细胞悬浮液，在20小时冷贮过程中，血红蛋白的释出量与紫外线照射剂量密切相关，测定结果汇列于表5。

经统计学处理并绘成图2，明显看出血红蛋白释出量与紫外线照射剂量成正比关系。相关系数=0.96，其直线回归方程为$y=3.2997x+5.1928$。

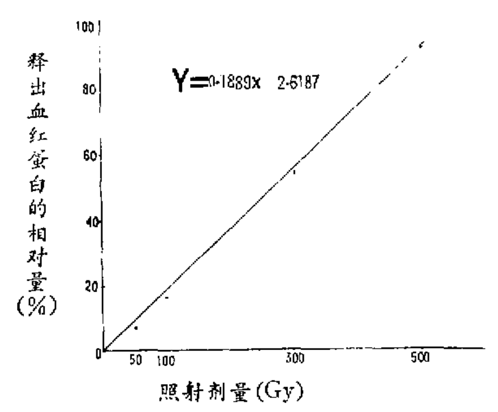


图 1 大白鼠血红蛋白释出量与γ—射线照射剂量的关系

表 5 紫外线对红细胞膜的损伤

组 合	照射距离（厘米）	照射时间（分钟）	光密度*	%
A 全溶血组	—	—	0.91	100
B	36	3	0.11	12.1
C	36	5	0.16	17.6
D	36	10	0.45	49.5
E	36	20	0.61	67

* 三次试验的平均数

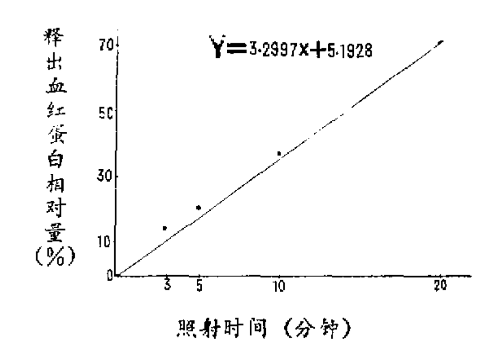


图 2 大白鼠血红蛋白释出量与紫外线照射剂量的关系

三、紫外线对红细胞膜损伤的恢复作用

上述实验表明：无论是γ射线或紫外线都能引起红细胞膜的损伤。虽然这两种辐射能量大小不同（γ射线能量为1.2Mev，紫外线为3ev），对红细胞膜损伤程度各异，但血红蛋白释出量都随剂量增加而增多。然而红细胞悬浮液经γ射线照射后再经紫外线照

射，它们将产生什么样的生物效应？我们的实验表明适量的紫外线能有效地修复γ射线引起的细胞膜损伤。从表6可清楚看出：大白鼠红细胞悬浮液经γ射线300Gy照射后10—20分钟，再用紫外线照射5分钟，明显地降低由γ射线引起的细胞膜损伤。如以a组经γ射线300Gy照射后所释放出血红蛋白量为100%（代表红细胞的全部辐射损伤），与其它各组相比较，以反映细胞膜损伤被减轻的百分比，则c组血红蛋白释出量显著地降低为41.9%。经统计学处理差别显著（$P<0.05$）。增加紫外线的强度(即d、e组)，血红蛋白的释出量有增多的趋势。以上结果说明γ射线与紫外线复合作用，在一定剂量范围内不仅不会加强红细胞膜的损伤，反而有利于细胞的正常生命活动。

表6　紫外线对红细胞膜的保护作用

组	合	光密度*	%	P值
a	300Gy	0.93	100	
b	300Gy ＋紫外线3分钟	0.44	47.3	
c	300Gy ＋紫外线5分钟	0.39	41.9	<0.05
d	300Gy ＋紫外线10分钟	0.94	101.1	
e	300Gy ＋紫外线20分钟	0.96	103.2	

* 三次试验的平均数

讨　论

如何防护电离辐射对生物有机体的损伤及损伤发展过程中所出现的生物效应，是当前放射生物学中重要的研究课题之一。近年来很多研究者着重于电离辐射对细胞膜、染色体的损伤与修复研究。据报导(Myers等，1966；陈去恶等，1979；Николаевская等，1974，1977；马寿祥等，1979，1980），谷胱甘肽，谷氨酸钠，DNA等均能防护电离辐射对细胞膜和染色体的损伤。但是有关紫外线对细胞膜防护的研究尚未见报导。实验表明：大白鼠红细胞悬浮液经γ射线300Gy照射后再经紫外线照射5分钟，能显著降低由电离辐射引起的细胞膜损伤。深入研究紫外线对细胞膜的修复作用及其生物学效应，无论在理论上或实践上都是十分有意义的。

γ射线与紫外线是两种不同类型的射线，对生物有机体损伤方式也各异，γ射线不仅能引起生物有机体的分子激发，而且还产生电离作用；紫外辐射主要是通过各种光化学产物的形成，而干扰或促进细胞正常代谢。Myasmk等（1980）研究了可见光对γ射线引起的大肠杆菌细胞突变和致死的影响。指出：由γ射线导致的一些突变，能被随后照射的可见光消除。并认为γ诱变突变产额降低也许是光致敏酶促进恢复的结果。紫外辐射对细胞分裂的抑制或加速也有一些报导，Mclorquodale等（1977）和Sudberg等（1975）研究了生长中的粘菌变形体经紫外线照射后的第一次分裂延迟，但随后几次细胞分裂被加速。Kollmann等（1969）认为，γ射线引起的红细胞溶血与细胞膜上巯基的破坏有

关。如果紫外辐射确能加速细胞分裂，溶血又与巯基被破坏有关，自然会想到紫外线的保护作用可能与促进细胞分裂，加速红细胞膜上巯基的恢复，改变细胞的通透性，最终导致溶血的减少有关。是否如此，有待进一步的研究。

参 考 文 献

陈去恶，甘大清　1979　实验生物学报，12（3）：252—261

马寿祥，周明培，钟金颜　1979　核防护，5：7—9

马寿祥，周明培，钟金颜　1980　遗传，2（6）：23—26

Singer, S. J. et al. 1972 *Science*, 175 (4025): 720—731.

Kollmann, G. et al. 1969 *Rad. Res.* 37 (3): 551—566.

Myers, D. K. et al. 1966 *Rad. Res.* 27 (2): 250—263.

Myasmk, M. N. et al. 1980 Int. *J. Radiat. Biol.* 37 (1): 85—88.

Mclorquodale, M. M. et al. 1977 *Exp. Cell Res.* 104 (2): 279—285.

Sudberg, P. E. et al. 1975 *Exp. Cell Res.* 95 (2): 405—415.

Николасвская, Н. Г. И ДР. 1974 Радиобиология, 14 (5): 695—699.

Николаевская, Н. Г. И ДР. 1977 Радиобиология, 17 (4): 572—575.

RECOVERY EFFECT OF ULTRAVIOLET LIGHT ON THE CELL MEMBRANE DAMAGE OF RAT ERYTHROCYTES INDUCED BY GAMMA—RADIATION

Ma Shouxiang　Zhong Jinyan

(*Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica*)

Recovery effect of ultraviolet light on the cell membrane damage of rat erythrocytes *in vitro* was studied.

Blood samples taken from the rat was centrifuged to separate blood cells from the plasma. The cells were washed twice with isotonic saline, resuspended in normal saline and irradiated. The cell suspensions were exposed to ultraviolet light 5 min 10—20 min after γ-irradiation with ^{60}Co r-ray then kept at 5 °C for 20 hours and centrifuged. The hemoglobin of the supernatants was determined. The main results obtained may be summarized as follows:

Ultraviolet light decreases radiation-induced hemolysis. The cell suspension of rat erythrocytes exposed to ultraviolet light 5 min 10—20 min after irradiation with 300Gy, the radiation-induced hemolysis decreased twice more than that of the control. However, the differences between control and ultraviolet light treated ones are statistically significant ($P<0.05$).